



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 08 258 A 1**

⑤① Int. Cl.⁶:
C 07 K 14/435
C 07 K 7/06
C 07 K 7/08
A 61 K 38/17
A 61 K 38/10
A 61 K 38/08

②① Aktenzeichen: 198 08 258.4
②② Anmeldetag: 27. 2. 98
④③ Offenlegungstag: 3. 9. 98

DE 198 08 258 A 1

⑥⑥ Innere Priorität:

197 08 134. 7 28. 02. 97
197 29 490. 1 10. 07. 97

⑦① Anmelder:

EVOTEC BioSystems GmbH, 22529 Hamburg, DE

⑦④ Vertreter:

Patentanwälte von Kreisler, Selting, Werner et col.,
50667 Köln

⑦② Erfinder:

Schaller, Chica, Prof. Dr., 22301 Hamburg, DE;
Hampe, Wolfgang, Dr., 22846 Norderstedt, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

- ⑤④ Kopfaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid und Verfahren zur Suche nach funktionalen Agonisten oder Antagonisten unter Verwendung von kopfaktivatorbindendem Protein oder Polypeptid
- ⑤⑦ Kopfaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid, erhältlich durch Isolierung aus *Chlorohydra viridissima* durch Anreicherung und Reinigung mittels chromatographischer Methoden, insbesondere Affinitätschromatographie mit Kopfaktivator als Affinitätsligand sowie Charakterisierung des erhaltenen Proteins oder Polypeptids durch Bindung von Kopfaktivator.

DE 198 08 258 A 1

page 5 sec #13

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein kopfaktivatorbindendes Protein oder Polypeptid, ein Verfahren zur Suche nach funktionalen Agonisten oder Antagonisten sowie nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältliche Wirkstoffe.

Süßwasserpolyphen (Hydra ssp.) zeichnen sich durch ein erstaunliches Regenerationsvermögen aus. Wie durch die Arbeitsgruppe um Chica Schaller gezeigt wurde, ist das Regenerationsvermögen mit der Ausschüttung von bestimmten Peptiden verbunden. So konnte ein Peptid isoliert werden, welches für die Regeneration des Polypenkopfes verantwortlich ist. Dieses Peptid wurde als Kopfaktivator bezeichnet. Der Kopfaktivator ist in seiner Struktur aufgeklärt (Europäisches Patent 0 064 302). Es handelt sich um ein Peptid von 11 Aminosäuren Länge. Ein Peptid mit identischer Sequenz wurde auch aus Rattendärmen sowie aus dem Hypothalamus von Mensch und Rind isoliert. Im Säugetiermervensystem wirkt der Kopfaktivator als Wachstumsfaktor während der Embryonalentwicklung und hat im adulten Gehirn neuroprotektive Funktionen.

In der deutschen Patentanmeldung 196 54 623.0 wird die Verwendung des Kopfaktivators zur Herstellung eines Arzneimittels zur prophylaktischen und/oder therapeutischen Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen beschrieben. Es ist daher von Interesse, ein System bereitzustellen, mit dem es ermöglicht wird, andere Stoffe zu entwickeln, die entweder bereits als Naturstoffe existieren oder synthetisch hergestellt werden sollen, um das Wirkungsspektrum dieser Wirkstoffklasse systematisch zu erfassen und gegebenenfalls wirksamere oder therapeutisch besser einsetzbare Substanzen zu erhalten.

Überraschenderweise wird dieses Ziel durch das Verfahren der vorliegenden Erfindung erreicht. Das erfindungsgemäße Verfahren weist die im Anspruch 6 genannten Merkmale auf. Die Unteransprüche 7 bis 16 betreffen bevorzugte Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Verfahrens.

Das im erfindungsgemäßen Verfahren zu verwendende Protein oder Polypeptid ist mithin auch Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Überraschenderweise wurde ein kopfaktivator-bindendes Protein nunmehr durch Isolierung aus *Chlorohydra viridissima* durch Anreicherung und Reinigung mittels chromatographischer Methoden, insbesondere Affinitätschromatographie mit Kopfaktivator als Affinitätsligand, erhalten. Der Kopfaktivator wurde gemäß Ausführungsbeispiel 1 an eine Vielzahl verschiedener aminoreaktiver Matrices gekoppelt. Eine dieser Matrices (Kopfaktivator gekoppelt an aktivierte CH-Sepharose P, sog. "KA-Sepharose") band mit hoher Affinität an das solubilisierete KA-Protein aus der Hydra-Membran. Es konnte somit ein 200 kDa Protein von der KA-Sepharose eluiert werden. Das gereinigte Protein wurde insbesondere durch Bindungsstudien mit Kopfaktivator sowie Derivaten des Kopfaktivators weiter charakterisiert. Die Glykosylierung des gereinigten 200 kDa Proteins wurde wie im Ausführungsbeispiel 1 beschrieben untersucht. Es zeigte sich, daß das Protein Kohlenhydrate enthält, von denen vermutlich einige Sialinsäuren sind. Die Entfernung N-verknüpfter Kohlenhydrate mittels N-Glykosidase F reduzierte die Molmasse des Proteins auf 180 kDa. Im Kohlenhydrat-Detektionsassay zeigte sich nur eine schwache Bande, was darauf schließen läßt, daß der Großteil der Glykosylierung über N-Verknüpfung erfolgt. Tabelle 1 gibt die mittels automatischem Edman-Abbau bestimmten Peptidsequenzen im Ein-Buchstaben-Code wider.

Weitergehende Analysen des erfindungsgemäß erhältlichen Proteins aus *Hydra ssp.* ergaben die in der Sequenzliste unter Seq.ID No.1 angegebene Aminosäuresequenz. Die oben beschriebenen Peptidsequenzen wurden verwendet, um degenerierte Oligonukleotide zu konstruieren. Mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion konnte ein Teil des Gens für das 200 kDa Protein amplifiziert werden. Screening in einer λ -cDNA-Bank und weitere Polymerasekettenreaktionen vervollständigten die Nukleotidsequenz, die als Seq. ID No. 2 in der Sequenzliste angegeben ist. Das abgeleitete Protein enthielt alle elf sequenzierten Peptide und umfaßt einen offenen Leserahmen von 1661 Aminosäuren. Am Aminoende befand sich eine Signalsequenz für den Transport ins endoplasmatische Retikulum, 55 Aminosäuren vor dem Carboxyende war eine hydrophobe Region angeordnet, die als einzige für eine mögliche Transmembrandomäne kodieren kann. Vor der Transmembrandomäne lagen zwei Fibronectin Typ III Domänen. Anschließend bestand über einen Bereich von mehr als 600 Aminosäuren eine hohe Homologie zu den Typ A- und B-Bereichen aus der Klasse der Lipoproteinrezeptoren. Weitere 600 Aminosäuren zeigten starke Homologie zu Membranproteinen mit der Bezeichnung VPS10 aus der Hefe *S. cerevisiae*. Das sequenzierte Aminoende des Proteins befand sich 85 Aminosäuren hinter dem Startmethionin in einer Sequenz, die für eine mögliche Proteaseschnittstelle kodierte. Das reife Protein wird wahrscheinlich durch spezifische Proteolyse gebildet.

Die Fig. 1 zeigt in schematisierter Form die Struktur des kopfaktivator-bindenden Proteins aus *Hydra*.

Insbesondere kann das kopfaktivator-bindende Protein oder Polypeptid als komplexe Anordnung aus mindestens einem kopfaktivator-bindenden Protein oder Polypeptid mit mindestens einem weiteren Protein oder Polypeptid vorliegen.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist weiterhin ein kopfaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid, welches mindestens innerhalb der kopfaktivator-bindenden Domäne in mindestens einer Teilsequenz zu mindestens 90%, insbesondere zu mindestens 95%, homolog zu der Teilsequenz der kopfaktivator-bindenden Domäne der in der Sequenzliste unter Seq. ID No. 1 angegebenen Aminosäuresequenz ist. In einer bevorzugten Ausführungsform besteht diese Teilsequenz aus mindestens 20 Aminosäuren.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Suche nach funktionalen Agonisten oder Antagonisten als Wirkstoffe durch Bestimmung der Bindungseigenschaften der in Frage kommenden Wirkstoffe oder in einer Probe befindlichen möglichen Wirkstoffe mit einem Protein oder Polypeptid nach einem der Ansprüche 1 bis 5.

In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens sind die Wirkstoffe zur Therapie von mit neurodegenerativen Erscheinungen verbundenen Erkrankungen einsetzbar. Funktionale Agonisten oder Antagonisten als Wirkstoffe werden durch Bestimmung der in Frage kommenden Wirkstoffe oder in der Probe befindlichen Wirkstoffe mit einem Rezeptor und/oder durch Messung einer rezeptor-vermittelten Veränderung in der zellulären Signalübertragung ermittelt, wobei das Protein nach einem der Ansprüche 1 bis 5 ein kopfaktivator-bindender Rezeptor oder Rezeptorkomplex eingesetzt wird und die antagonistische oder agonistische Wirkung im Vergleich zum Kopfaktivator oder zu

Derivaten des Kopfkaktivators getestet wird.

Es kann weiterhin bevorzugt sein, im erfindungsgemäßen Verfahren ein kopfkaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid in löslicher Form einzusetzen. Weiterhin ist es möglich, dieses in membranassoziiierter Form zu verwenden.

Vorzugsweise wird der verwendete Kopfkaktivator aus Coelenteraten, insbesondere *Hydra ssp.* oder *Anthopleura ssp.*, oder aus Säugern, insbesondere aus Rattendärmen oder dem Hypothalamus des Menschen oder des Rindes, gewonnen.

Das kopfkaktivator-bindende Protein oder Polypeptid kann insbesondere die nachfolgend näher beschriebenen Domänen und/oder zu diesen Domänen homologe Domänen enthalten. Die luminale Domäne des Hefeproteins (VPS10) wurde von Marcusson et al. (Cell, 77, 579–586, 1994) beschrieben. Die insbesondere durch das Tetrapeptid "YWTD" ausgezeichnete Klasse-B-Domäne der Low Density Lipoprotein Rezeptoren wird im folgenden mit "LDLR-B" bezeichnet (Krieger und Herz, Annu. Rev. Biochem. 63, 601–637, 1994). Das von Bork et al. (Q. Rev. Biophys., 29, 119–167, 1996) beschriebene, dem epidermalen Wachstumsfaktor ähnliche Modul wird im folgenden mit "EGF" bezeichnet. Die durch die typische Anordnung von Cysteinen sowie weiterer konservierter Aminosäuren charakterisierten Klasse-A-Domänen der Low Density Lipoprotein Rezeptoren werden nachfolgend mit "LDLR-A" bezeichnet (Daly et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 6334–6338, 1995). Fibronectin Typ III-Module werden im folgenden mit "FIII" bezeichnet (Bork et al., Q. Rev. Biophys., 29, 119–167, 1996). Die hydrophobe Transmembrandomäne wird nachfolgend mit "TM" bezeichnet, während die intrazelluläre Domäne durch die Abkürzung "IC" dargestellt wird.

In einer bevorzugten Ausführungsform weist das kopfkaktivatorbindende Protein oder Polypeptid mindestens eine der nachfolgend aufgeführten Domänen und/oder mindestens eine zu diesen Domänen homologe Domäne und/oder Kombinationen hiervon auf: VPS10, LDLR-B, EGF, LDLR-A, FIII, TM und IC.

Die kopfkaktivator-bindende Domäne des Proteins oder Polypeptids kann sich außerhalb oder innerhalb mindestens einer der Domänen vom Typ VPS10, LDLR-B, EGF, LDLR-A, FIII, TM und IC und/oder mindestens einer zu diesen Domänen homologen Domänen befinden.

Insbesondere besitzt das kopfkaktivator-bindende Protein eine Anordnung der zu folgenden Domänen homologen Domänen: eine VPS10-Domäne, gefolgt von sechs LDLR-B-Domänen, einer EGF-Domäne, sieben LDLR-A-Domänen, zwei Domänen vom FIII-Typ, einer TM-Domäne und einer IC-Domäne. Ein Rezeptor mit derartiger Domänenanordnung ist insbesondere aus *Hydra ssp.* isolierbar.

In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird ein kopfkaktivator-bindendes Protein mit der in der Sequenzliste unter Seq. ID No. 1 genannten Aminosäuresequenz verwendet. Weitere Einzelheiten sind der Fig. 3 zu entnehmen.

Es kann weiterhin bevorzugt sein, ein kopfkaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid zu verwenden, welches mindestens innerhalb der kopfkaktivator-bindenden Domäne in mindestens einer Teilsequenz zu mindestens 90%, insbesondere zu mindestens 95%, homolog zu der Teilsequenz der kopfkaktivator-bindenden Domäne der in Anspruch 3 genannten Aminosäuresequenz ist. Diese Teilsequenz kann insbesondere eine Länge von mindestens zwanzig Aminosäuren aufweisen.

Die kopfkaktivator-bindenden Proteine sind insbesondere aus *Hydra ssp.* oder Säugetiergewebe isolierbar. Es hat sich überraschenderweise gezeigt, daß das kopfkaktivator-bindende Protein aus *Hydra* homolog ist mit aus Säugergewebe, insbesondere humanem Gewebe, isolierbaren Protein (Jacobsen et al., Journal of biological Chemistry, 271, 31379–31383, 1996). Die aus *Hydra ssp.* und humanem Gewebe isolierbaren Proteine sind in Fig. 2 gegenübergestellt, um deren Homologie darzustellen.

In situ Hybridisierungen wurden durchgeführt, um das Expressionsmuster des Säugetierhomologs im Gehirn näher zu untersuchen. Hierzu wurde zunächst ein Teil des Gens für das Maushomolog mittels Polymerasekettenreaktion amplifiziert. Es zeigte sich, daß in der Maus das Protein relativ stark im adulten Kleinhirn sowie im Hippocampus und schwächer im Cortex exprimiert wurde. Im Kleinhirn besitzen vor allem Purkinjezellen die mRNA, in den Granulär- und Körnerzellen kommt sie wesentlich seltener vor. Weitere Untersuchungen zeigten, daß das Protein schon in sehr frühen Stadien der Gehirnentwicklung spezifisch in wenigen Neuronen exprimiert wird, was darauf hindeutet, daß der Kopfkaktivator bei der Differenzierung der Nervenzellen des Gehirns und damit für die Physiologie bzw. Pathophysiologie des Gehirns eine Rolle spielt. Daher sind Kopfkaktivator und an Kopfkaktivatorrezeptor bindende Substanzen von hohem therapeutischen und diagnostischen Wert.

Ausführungsbeispiel 1

Eine mehrköpfige Mutante von *Chlorohydra viridissima* (Lenhoff, Science, 148, 1105–1107, 1965) wurde wie von Christians et al. (FEBS Lett. 316, 141–146, 1993) beschrieben kultiviert. Membranpräparationen erfolgten gemäß Neubauer et al. (Mech. Dev. 33, 39–47, 1991). Falls nicht anders beschrieben, wurde der Kopfkaktivatorrezeptor in 50 mM MES, pH 6, durch leichtes Schütteln (60 min.; 4°C) bei einer Proteinkonzentration von 0.5 mg/ml in Gegenwart von 1% Triton X-100, 1 mM NaCl und Proteaseinhibitoren (1 mM Phenylmethylsulfonylfluorid, 1 mM Pefabloc SC und 1 µg/ml Leupeptin) solubilisiert. Unlösliches Material wurde mittels Zentrifugation (30 min., 100,000 × g) entfernt.

Das Kopfkaktivatorpeptid mit der Sequenz Glp-Pro-Pro-Gly-Gly-Ser-Lys7-Val-Ile-Leu-Phe11 (1 mg/ml gequollener Matrix) wurde wie von Hampe et al. (Eur. J. Biochem. 235, 814–820, 1996) beschrieben monomerisiert und an Affi-Gel 10 und 15 (BIO-RAD), CNBr-aktivierte Sepharose 4B, epoxy-aktivierte Sepharose 6B (Sigma) und aktivierte CH-Sepharose 4B (Pharmacia) gekoppelt. Die Präparation der Affinitätsmatrices erfolgte nach Anleitung des Herstellers in wäßriger Lösung. Der Anteil des an die Matrix gebundenen Kopfkaktivators wurde durch Quantifizierung des Kopfkaktivators im Überstand sowie den Waschfraktionen mittels Reverse-Phase-HPLC bestimmt. Zudem wurden Radioimmunoassays unter Verwendung von anti-KA-Antikörpern durchgeführt (Winnikes et al., Eur. J. Cancer 28, 421–424, 1992). Kontrollen wurden sowohl ohne Peptidkopplung als auch mittels Kopplung von Bradykinin an aktivierte CH-Sepharose 4B durchgeführt.

Die Affinitätschromatographie mit kopfkaktivator-gekoppelter, aktivierter CH-Sepharose 4B (KA-Sepharose) erfolgte in batches. 100 ml des Solubilisates wurden mit 1.5 ml KA-Sepharose bei 4°C über Nacht geschüttelt. Nach kurzer Zen-

trifugation ($100 \times g$) wurde der Überstand entfernt und die KA-Sephrose zweimalig mit 50 ml des Puffers A (75 mM NaCl, 0.1% Triton X-100, 50 mM MES pH 6.0), zweimalig mit 50 ml des Puffers E (2 M NaCl, 0.1% Triton X-100, 50 mM MES pH 6.0), einmalig mit 50 ml 5%iger Ethanollsg. sowie einmalig mit 50 ml 0.1% Triton X-100 gewaschen. Die Elution des kopfaktivator-bindenden Proteins erfolgte durch leichtes 30-minütiges Schütteln der KA-Sephrose bei 4°C in Gegenwart von 1.5 ml 4 M $MgCl_2$ / 0.1% Triton X-100 (natives Protein) bzw. 2 M Essigsäure / 0.1% Triton X-100 (komplette Elution des 200 kDa Proteins). Anschließend wurde die Matrix mit 1.5 ml 0.1% Triton X-100 gewaschen und diese Fraktion mit dem ersten Eluat gepoolt. Für Ligandenbindungsstudien wurde dieser Pool gegen 10 mM Ammoniumacetat pH 6.0, 1 mM $CaCl_2$, 0.1 mM KCl, 0.1 mM $MgCl_2$, 0.1% Triton X-100 dialysiert. Das im Eluat befindliche 200 kDa Protein wurde routinemäßig unter Verwendung von Strataclean-Harz (Stratagene) konzentriert. Dieser wurde mit dem Eluat inkubiert, mit Wasser gewaschen, mit SDS-Probenpuffer gemischt und zur Elektrophorese auf ein SDS/Polyacrylamidgel transferiert.

Die Bindungsstudien wurden wie von Hampe et al. (Eur. J. Biochem. 235, 814-820, 1996) beschrieben durchgeführt. Die Konzentration des nativen kopfaktivator-bindenden Proteins wurde routinemäßig in einem Ligandenbindungsassay unter Verwendung von 1 nM [^{125}I -Tyr]-KA-KA Dipeptid als radioaktivem Tracer und 0.5 μ M [I-Tyr11]-KA als Kompetitor bestimmt. Gebundener und freier Ligand wurden durch Filtration mittels in 0.3% Polyethylenimin vorbehandelter GF/F Glasfaser-Filter (Whatman) separiert. Zur Bestimmung der Ligandenbindungsaktivität des affinitätsgereinigten Proteins wurden 50 μ l Dialysat für jede Tracerkonzentration verwendet. Proteinkonzentrationen wurden unter Verwendung des BCA Proteinassays (Pierce) mit Rinderserumalbumin als Standard bestimmt. Die Proteinkonzentration des Eluates wurde durch Vergleich der Intensität der silbergefärbten Rande im SDS-Polyacrylamidgel mit der von BSA ermittelt.

Die Kohlenhydratdetektion erfolgte mittels eines Glyco-Track Kohlenhydrat-Detektionskits (Oxford Glyco Systems). 30 μ l des KA-Sephrose-Eluates wurden einer Elektrophorese unterworfen und auf eine Immobilon-P-Membran (Millipore) in 25 mM Tris, 192 mM Glycin transferiert (1 h, 100 V, 4°C). Auf dem Blot vorhandene Glycoproteine wurden entweder mit 10 mM Periodat (Oxidation aller Saccharide) oder mit 1 mM Periodat (selektive Oxidation der Sialinsäuren) oxidiert. Die oxidierten Zucker wurden anschließend mit Protin-Hydrazid gelabelt und mittels Streptavidin-alkalische Phosphatase-Konjugat detektiert. Die enzymatische Deglykosylierung des 200 kDa Proteins erfolgte mit N-Glykosidase F (Boehringer Mannheim) durch Denaturierung des Proteins mit SDS, gefolgt von einer Inkubation in Octylglucosid über Nacht und anschließender Analyse mittels SDS/PAGE und Silberfärbung (Merril et al., Science 211, 1437-1438, 1981) oder Kohlenhydratdetektion.

Das essigsäure Eluat der HA-Sephrose wurde konzentriert und einer SDS/PAGE unterworfen. Zur N-terminalen Sequenzierung wurde das Protein wie oben beschrieben geblottet. Für den proteolytischen Verdau wurde die 200 kDa Coomassie Brilliantblau gefärbte Bande gründlich mit Wasser gewaschen und mit Trypsin oder Endoprotease LysC (Eckersdorn und Lottspeich, Chromatographia 28, 92-94, 1989) behandelt. Die resultierenden Peptide wurden mittels Reverse-Phase-HPLC gereinigt und sequenziert (Applied Biosystems 473).

DE 198 08 258 A 1

Tabelle 1

N-Terminus

SAASELPQSTPFS

Seq. ID No. 3

5

Trypsin-Fragmente

SAASELPQSTPFSFND

Seq. ID No. 4

10

YPNGLAIDYVENR

Seq. ID No. 5

NLQSYITF

Seq. ID No. 6

15

QYFAVAIAHNNVE

Seq. ID No. 7

LysC-Fragmente

VVTSSTTHPYSL

Seq. ID No. 8

20

DVEGYVVSIDEK

Seq. ID No. 9

25

YHPRNAYYVM

Seq. ID No. 10

TPLRIYGLLTEP

Seq. ID No. 11

30

NDIYWDDWV

Seq. ID No. 12

RVSNLAF TVNQ T

Seq. ID No. 13

35

40

45

50

55

60

65

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

(A) NAME: Evotec BioSystems GmbH
 (B) STRASSE: Grandweg 64
 (C) ORT: Hamburg
 (E) LAND: Deutschland
 (F) POSTLEITZAHL: 22529

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Kopfaktivatorbindendes Protein
 oder Polypeptid und Verfahren zur Suche nach funktionalen
 Agonisten oder Antagonisten unter Verwendung von
 kopfaktivatorbindendem Protein oder Polypeptid

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 13

(iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

(A) DATENTRÄGER: Floppy disk
 (B) COMPUTER: IBM PC compatible
 (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
 (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 1661 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: NEIN

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

Met	Lys	Met	Ala	Tyr	Val	Arg	Ile	His	Lys	Val	Ser	His	Asn	Asn	Ser	1	5	10	15
Leu	Phe	Phe	Leu	Leu	Phe	Ile	Ala	Val	Phe	Gln	Phe	Val	Thr	Val	Asn	20	25	30	
Val	Ser	Asn	Ala	Ser	Ser	Leu	Ser	Val	Asn	Pro	Ser	Phe	Leu	Pro	Arg	35	40	45	
Thr	Arg	Asp	Gly	Asn	Arg	Glu	Lys	Phe	His	Ile	Lys	Ile	Asn	Val	Asn	50	55	60	
Glu	Glu	Phe	Asn	Ser	Thr	Pro	Lys	Asn	His	Ile	Ala	Asn	Ser	Phe	Arg	65	70	75	80
Arg	Tyr	Ile	Arg	Ser	Ala	Ala	Ser	Glu	Leu	Pro	Gln	Ser	Thr	Pro	Phe	85	90	95	
Ser	Phe	Asn	Asp	Ser	His	Tyr	Ile	Ala	Lys	Val	His	Trp	Ser	Gly	Ser	100	105	110	
Asn	Ser	Ser	Thr	Ile	Leu	Ile	Leu	Met	Thr	Asp	Pro	Asp	Phe	Met	Leu	115	120	125	

DE 198 08 258 A 1

Ser	Ser	Leu	Arg	Pro	Ser	Tyr	Phe	Tyr	Ile	Ser	Arg	Asp	Tyr	Gly	Lys		
130						135					140						
Thr	Phe	Lys	Asn	Tyr	Thr	Asp	Asp	Leu	Ile	Leu	Pro	Asn	Arg	Thr	His	5	
145					150					155					160		
Ala	Val	Val	Thr	Asp	Phe	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Asp	Asn	Asn	Lys	Tyr		
				165						170				175			
Ile	Leu	Val	Ala	Lys	Phe	His	Gln	Tyr	Ile	Phe	Gln	Ser	Asp	Asp	Glu	10	
			180					185					190				
Trp	Asn	Ser	Phe	Gln	Arg	Val	Ala	Val	Pro	Phe	Lys	Pro	Ile	Glu	Ile		
		195					200					205				15	
Lys	Tyr	His	Pro	Arg	Asn	Ala	Tyr	Tyr	Val	Met	Ala	Tyr	Glu	Lys	Asp		
	210					215					220						
Glu	Gly	Asn	Lys	Met	Leu	Tyr	Val	Ser	Thr	Arg	Asn	Gly	Lys	Ser	Trp	20	
225					230					235					240		
Gln	Tyr	Lys	Ala	Ser	Arg	Val	Val	Asn	Tyr	Phe	Trp	Gly	Tyr	Ala	Pro		
				245					250					255			
Pro	Tyr	Asp	Phe	Gly	Ile	Asp	Leu	Tyr	Phe	Gln	Arg	Glu	Lys	Tyr	Tyr	25	
			260					265					270				
Asp	Tyr	Gly	Gly	Met	Val	His	Lys	Ala	Ser	Pro	Trp	Gly	Phe	Phe	Ser		
		275					280					285				30	
Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Tyr	Asp	Val	Val	Asp	Phe	Lys	Leu	Val	Glu	Glu		
		290				295					300						
Tyr	Met	Phe	Ile	Val	Lys	Asn	Gly	Thr	Asp	Pro	Thr	Tyr	Lys	Thr	Leu	35	
305					310					315					320		
Gln	Val	Ser	Val	Asn	Arg	Gly	Glu	Phe	Gln	Asn	Thr	Thr	Phe	Pro	Ile		
				325					330					335			
Gln	Asn	Ala	Leu	Ser	Tyr	Ile	Ile	Ala	Asp	Ala	Thr	Glu	Asp	Glu	Val	40	
			340					345					350				
Met	Val	Ala	Val	Ala	His	Glu	Lys	Val	Ala	Asn	Leu	Tyr	Ile	Ser	Gly		
		355					360					365				45	
Arg	Asp	Gly	Thr	Lys	Phe	Ser	Leu	Ser	Met	Thr	Asn	Ile	Leu	Tyr	Tyr		
		370				375					380						
Asn	Glu	Asn	Asp	Gly	Arg	Lys	Arg	Phe	Phe	Glu	His	Asp	Phe	Val	Glu		
385					390					395					400	50	
Leu	Tyr	Lys	Val	Glu	Gly	Ile	Ser	Gly	Ile	Tyr	Ile	Ala	Thr	Gln	Leu		
				405					410					415			
Ser	Ser	Glu	Glu	Val	Gly	Arg	Arg	Asn	Leu	Gln	Ser	Tyr	Ile	Thr	Phe		
				420				425					430			55	
Asp	Lys	Gly	Gly	Glu	Trp	Ser	Leu	Ile	Arg	Ala	Pro	Val	Asp	Ser	Glu		
		435					440					445					
Asn	Cys	Ser	Ile	Glu	Ser	Arg	Cys	Ser	Leu	His	Ile	Ser	Leu	Glu	Phe	60	
	450					455					460						
Gly	Tyr	His	Asn	Pro	Tyr	Thr	Arg	Phe	Thr	Pro	Ala	Phe	Ser	Lys	Lys		
465					470					475					480	65	

DE 198 08 258 A 1

Ser Ala Pro Gly Phe Ile Ile Ala Thr Gly Ser Val Gly Ser Ser Leu
 485 490 495
 5 Thr Ser Ser Pro Ser Val Tyr Phe Ser Ser Asn Ala Gly Ile Ser Trp
 500 505 510
 Lys Lys Ile Phe Asp Gly Asn Tyr Tyr Tyr Ala Phe Val Asp His Gly
 515 520 525
 10 Gly Val Ile Val Gly Val Glu Lys Tyr Gly Met Thr Ser Tyr Leu Arg
 530 535 540
 Tyr Ser Tyr Asp Glu Gly Asn Thr Trp Tyr Ser Tyr Asn Phe Tyr Lys
 545 550 555 560
 15 Thr Pro Leu Arg Ile Tyr Gly Leu Leu Thr Glu Pro Gly Glu Lys Thr
 565 570 575
 20 Thr Val Phe Thr Leu Phe Gly Ser Leu Pro Glu Ala His Ser Trp Ile
 580 585 590
 Val Ile Gln Val Asp Met Lys Leu Val Leu Gly Asn Gln Cys Gln Glu
 595 600 605
 25 Lys Asp Tyr Lys Thr Trp Glu Val Thr Asp Leu Arg Asn Ser Thr Gln
 610 615 620
 His Cys Leu Leu Gly Lys Lys Gln Ile Tyr Lys Arg Arg Asp Pro Thr
 625 630 635 640
 30 Ser Leu Cys Tyr Asn Gly Tyr Asp Tyr Asp Arg Pro Ile Ser Ser Phe
 645 650 655
 35 Pro Cys Leu Cys Thr Arg Glu Asp Tyr Asp Cys Asp Phe Gly Phe Lys
 660 665 670
 Leu Ser Trp Lys Gly Trp Ser Ser Ile Ser Cys Ala Pro Asp Thr Asp
 675 680 685
 40 Asn Ile Phe Ser Ala Asn Gln Thr Ile Pro Ala Trp Cys Lys Pro Gly
 690 695 700
 Lys Phe Tyr Asn His Ser Thr Gly Tyr Arg Lys Val Pro Gly Asp Glu
 705 710 715 720
 45 Cys Asn Gly Gly Ile Glu Asp Gln Leu Asn Pro Ile Leu Arg Ala Cys
 725 730 735
 Pro Ile Lys Lys Ser Ser Glu Tyr Leu Phe Tyr Ser Thr Arg Arg Asn
 740 745 750
 50 Ile Tyr Arg Tyr Asp Phe Val Thr Lys Glu Val Ile Glu Phe Asp Leu
 755 760 765
 55 Asn Asp Met Lys Asn Val Val Ser Leu Glu Val Asp Tyr Asn Ser Asn
 770 775 780
 Val Leu Phe Tyr Ala Asp Ile Met Leu Asp Lys Ile Val Val Met Asn
 785 790 795 800
 60 Met Asn Thr Gly Asn Ile Ser Val Leu Leu Gln Met Asn Asn Ser Val
 805 810 815
 Val His Ile Glu Ala Leu Ser Tyr Asp Trp Met Asn Gly Asn Leu Tyr
 820 825 830
 65

DE 198 08 258 A 1

Tyr Cys Asp Ala Gly Leu Ala Glu Ile Gly Thr Ile Ser Leu Gln Lys	
835 840 845	
Lys Tyr Arg Lys Val Leu Val Lys Asn Asp Thr Leu Asp Lys Pro Arg	5
850 855 860	
Ala Leu Val Leu His Pro Gln Lys Gly Ile Met Phe Trp Thr Asp Trp	
865 870 875 880	
Gly Leu Asn Pro Lys Val Gly Ser Ala Asn Met Asp Gly Ser Lys Pro	10
885 890 895	
Tyr Ser Val Ile Ser Ser Asn Ile Arg Tyr Pro Asn Gly Leu Ala Ile	
900 905 910	15
Asp Tyr Val Glu Asn Arg Leu Tyr Trp Thr Asp Ala Gly Thr Tyr Lys	
915 920 925	
Ile Glu Ser Ser Asp Leu Asn Gly Gln Asn Arg Lys Val Val Thr Ser	20
930 935 940	
Ser Thr Thr His Pro Tyr Ser Leu Thr Ile Leu Lys Asn Asp Ile Tyr	
945 950 955 960	
Trp Asp Asp Trp Val Thr His Ser Ile Ser Lys Val Asp Lys Lys Ser	25
965 970 975	
Ser Ser Ile Glu Thr Val Ile Pro Tyr Ile Tyr Asn Gly Met Asp Val	
980 985 990	30
Lys Ala Tyr Trp Pro Glu Lys Gln Thr Thr Gly Tyr Asn Pro Cys Ser	
995 1000 1005	
Ser Ser Arg Cys Ser Phe Trp Cys Leu Pro Ile Ala Asp Tyr Pro Gly	35
1010 1015 1020	
Tyr Arg Cys Thr Cys Pro Asp Asn Leu Val Asp Asn Gly Asn Gly Asn	
1025 1030 1035 1040	
Cys Thr Cys Pro Gly Ser Glu Val Tyr Gln Asp Gly Glu Cys Lys Pro	40
1045 1050 1055	
Lys Leu Asp Cys Met Asp Asn Gln Phe Lys Cys Thr Asn Gly Asp Cys	
1060 1065 1070	45
Ile Pro Leu Thr Trp Lys Cys Asp Met Asp Thr Asp Cys Asn Asp Ser	
1075 1080 1085	
Ser Asp Glu Asp Lys Asn Ile Cys Asn Lys Val Lys Cys Asn Ala Asn	50
1090 1095 1100	
Gln Phe Thr Cys Ala Asn Asn Arg Cys Leu Pro Ser Leu Ser Trp His	
1105 1110 1115 1120	
Cys Asp Gly Glu Asn Asp Cys Gly Asp Gly Ser Asp Glu Lys His Cys	55
1125 1130 1135	
Ser Asn Cys Thr Glu Ser Thr His Phe Leu Cys Pro Asn Asn Arg Cys	
1140 1145 1150	
Ile Ser Lys Ser Trp Leu Cys Asp Gly Asp Asn Asp Cys Ser Asp Gly	60
1155 1160 1165	
Phe Asp Glu Ala Pro Ala Ile Cys Gly Ala Lys Thr Thr Gln Met Pro	
1170 1175 1180	65

DE 198 08 258 A 1

Tyr Thr Glu Pro Thr Gln Pro Gln Phe Cys Ser Gln Asn Gln Phe Lys
 1185 1190 1195 1200
 5 Cys Lys Asn Asn Asn Cys Ile Ala Ser Phe Phe Lys Cys Asn Gly Leu
 1205 1210 1215
 Asp Asp Cys Gly Asp Asn Ser Asp Glu Ser Ser Cys Gln Ser Thr Phe
 1220 1225 1230
 10 Thr Pro Pro Val Thr Ser Leu Lys Cys Gly Phe Gly Glu Ala Tyr Cys
 1235 1240 1245
 Ala Asp Arg Lys Glu Cys Tyr Gln Lys Ile Ser Lys Cys Asp Gly Met
 1250 1255 1260
 15 Leu Asp Cys Arg Asp Gly Ser Asp Glu Tyr Asn Cys Lys Thr Met Pro
 1265 1270 1275 1280
 20 Thr Thr Pro Ile Val Ser Cys Thr Gly Phe Arg Cys Lys Thr Gly Glu
 1285 1290 1295
 Cys Ile Ser Leu Lys Lys Val Cys Asp Thr Arg Lys Asp Cys Pro Leu
 1300 1305 1310
 25 Gly Glu Asp Glu Ser Ile Cys Lys Gly Met Leu Asn Asp Val Cys Tyr
 1315 1320 1325
 Pro Ala Pro Phe Gly Phe Asn Cys Thr Ile Pro Asp Gly Arg Cys Tyr
 1330 1335 1340
 30 Ser His Ser Lys Met Cys Asp Lys Asn Phe Asp Cys Thr Asp Leu Ser
 1345 1350 1355 1360
 35 Asp Glu Asp Pro Lys Val Cys Glu Val Thr Lys Arg Val Ser Asn Leu
 1365 1370 1375
 Ala Phe Thr Val Asn Gln Thr Ser Val Leu Leu Ser Trp Glu His Pro
 1380 1385 1390
 40 Pro Val Lys Leu Lys Asp Val Glu Gly Tyr Val Val Ser Tyr Ile Asp
 1395 1400 1405
 Glu Lys Asn Lys Val Thr Glu Ile Pro Ile Gly Leu Gln Lys Ser Tyr
 1410 1415 1420
 45 Thr Val Thr Asn Leu Lys Pro Cys Arg Gln Tyr Val Phe Ala Val Ala
 1425 1430 1435 1440
 Ile Ala His Asn Asn Val Glu Lys Ile Lys Trp Leu Tyr Thr Ser Thr
 1445 1450 1455
 50 Asp Pro Leu Arg Thr Gly Gly Val Arg Lys Pro Glu Gly Ala Tyr Asn
 1460 1465 1470
 55 Ile Asp Val Tyr Pro Ser Phe Val Ser Trp Thr Glu Asp Val Gly Asn
 1475 1480 1485
 Cys Phe Leu Gln Tyr Glu Ile Ile Tyr Lys Met Leu Lys Cys Asn Gln
 1490 1495 1500
 60 Ile Val Asp Glu Ile Met Leu Asp Gly Asp Thr Arg Ile Lys Asn Met
 1505 1510 1515 1520
 65 Asp Ala Leu Leu Leu Ser Tyr Gly Gly Lys Leu Arg Asn Thr Tyr Ser
 1525 1530 1535

DE 198 08 258 A 1

Cys Val Ile Leu Ile Ala Tyr Glu Ser Ser Glu Gly Asn Pro Phe Asn		
1540	1545	1550
Arg Thr Ser Thr Pro Phe Gln Tyr Thr Pro Val Gly Thr Leu Glu Ala		5
1555	1560	1565
Ala Pro Val Lys Gln Gln Glu Asn His Ser Ser Phe Lys Ser Lys Ala		
1570	1575	1580
Ile Ile Trp Gly Ile Pro Val Ala Leu Val Leu Ile Ala Leu Phe Val		10
1585	1590	1595
Gly Leu Phe Val Met Ile Tyr Lys Tyr Arg Arg Leu Gln His Ser Phe		
1605	1610	1615
		15
Leu Ala Phe Ala Ala Arg Gly Ser Tyr Ala His Gln Asp Asp Phe Asp		
1620	1625	1630
Asp Asp Asn Met Val Val Gly Phe His Ser Gly Glu Asp Ala Pro Met		20
1635	1640	1645
Ile Asn Arg Phe Ser Asp Asp Glu Pro Leu Val Val Ala		
1650	1655	1660
(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:		25
(i) SEQUENZKENNZEICHEN:		
(A) LÄNGE: 5839 Basenpaare		
(B) ART: Nucleotid		
(C) STRANGFORM: nicht bekannt		30
(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt		
(ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNA		
(iii) HYPOTHETISCH: NEIN		35
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:		40
GAATTCTCAA ACTTATGACG TCTGAATCAT TTTTAAAATA TGGTATGAAC AAAGTTTTC	60	
ACTCGTTGAT TCGCACAAAC AACTTTATTT TGTTCGTTT TTTACGATAT CTACAATTGG	120	
TCGTTTTGAA ATAAAAACCC GAAGTTGAAA GATTTTAACT ATTTTAAATG CTTGAGTAGC	180	45
GAAAAAGATA TTTAACAGTA AAATAGAAGT GTCACATTAA TAATTTAAAA ATTCTCAACT	240	
TCACCGTTGC TAAAAATCAA ATGCCCTTCT TCTGTCTGCA AATGTTTGAA GCAATAAAGT	300	50
ATCTTTTACC TTAGATATCA CTACACTTCA CAATTATTTA GCTTTACTTA ATTATCTACT	360	
ACTTTAATGT AAGATCACGC TTTTCAACTT AACGGTGGAG ATTTAAATCA CGAGTCCCAG	420	
ATAACAATGA CGTATTTGAA ACTAAGGCAA AAGTGAAC TAATTATTTT ATACATAAAC	480	55
ATGAAAATGG CGTACGTGCG CATCCATAAA GTTTCGCATA ATAATTCTCT TTTTCTCTTA	540	
CTTTTATTG CTGTATTCCA GTTTGTAAGT GTTAATGTAT CAAATGCTAG TTCCCTTTCT	600	60
GTTAACCCAT CATTCTTACC AAGAACGCGT GATGGTAATC GGGAGAAATT TCACATAAAA	660	
ATAAACGTGA ATGAGGAATT TAACTCAACA CCAAAAAATC ACATTGCAAA CAGCTTTCGT	720	
CGATACATTC GAAGTGCTGC CTCAGAACTG CCTCAAAGTA CACCATTTTC GTTCAATGAT	780	65

DE 198 08 258 A 1

	TCTCATTATA TTGCTAAAGT TCATTGGTCA GGAAGCAACA GCTCAACAAT TCTCATCCTT	840
	ATGACTGATC CTGACTTTAT GCTTAGCAGT TTAAGGCCAA GTTATTTTAA CATATCACGA	900
5	GATTATGGTA AAACCTTTTAA AAACCTATACC GATGACCTAA TTCTTCCTAA CAGAACACAT	960
	GCTGTAGTTA CAGATTTTTT TTCAAGTAGT GCTGATAATA ATAAATATAT ATTGGTAGCA	1020
10	AAATTTCACC AATATATTTT TCAGTCAGAC GATGAGTGGG ATTCCCTTCA ACGAGTTGCT	1080
	GTTCCTTTTA AACCCATAGA AATAAAATAT CATCCAAGAA ATGCTTATTA TGTATGGCT	1140
	TATGAAAAAG ATGAAGGAAA CAAAATGTTA TATGTGTCAA CCAGGAATGG CAAATCATGG	1200
15	CAATACAAAG CTTCTAGAGT TGTCAATTAT TTCTGGGGGT ATGCGCCACC CTATGACTTT	1260
	GGAATTGATC TTTACTTTCA AAGAGAAAAG TATTATGATT ATGGCGGAAT GGTCCATAAA	1320
	GCATCTCCGT GGGGTTTCTT TTCTTCAAGT GTTATTGCAT ATGATGTTGT TGATTTCAAG	1380
20	CTTGTTGAGG AATACATGTT TATTGTGAAA AATGGAACAG ACCCAACGTA TAAACATTG	1440
	CAAGTTTCCG TAAACAGAGG CGAGTTTCAA AATACTACAT TTCCTATTCA AAATGCATTG	1500
25	AGCTACATTA TTGCAGATGC AACTGAAGAT GAGGTAATGG TGGCAGTTGC ACATGAAAAA	1560
	GTAGCCAATC TATATATCTC TGGGAAGAGT GGAAGTAAGT TTAGTTTGTC GATGACAAAC	1620
	ATCTTGATTT ATAATGAAAA TGATGGCAGG AAAAGGTTTT TTGAACATGA TTTTGTGGAG	1680
30	TTATACAAAG TTGAAGGAAT CTCTGGTATT TACATTGCTA CACAATTATC TAGTGAAGAA	1740
	GTGGGTCGGA GGAATCTTCA ATCATATATA ACCTTTGATA AAGGAGGAGA GTGGTCACTT	1800
35	ATCAGGGCTC CTGTGGATTC TGAAAATTGC AGCATAGAAA GTAGATGCTC ACTGCATATC	1860
	TCATTAGAGT TTGGTTATCA TAATCCATAC ACTCGATTCA CACCTGCTTT TTCAAAGAAA	1920
	TCTGCTCCTG GTTTCATAAT TGCTACTGGA AGTGTGGTA GCAGTCTAAC CTCATCCCCC	1980
40	TCTGTTTACT TTTCAAGTAA TGCTGGAATC AGTTGGAAGA AGATCTTTGA TGGTAATTAC	2040
	TATTACGCCT TTGTTGATCA TGGTGGTGTG ATAGTAGGTG TTGAAAAGTA TGGCATGACA	2100
	TCTTATCTTC GATATAGCTA TGATGAAGGG AATACATGGT ATTCATACAA TTTTACAAG	2160
45	ACACCATTAA GAATCTATGG TTTGTTAACA GAACCTGGAG AAAAACTAC AGTGTTTACA	2220
	CTTTTTGGAT CTTTGCCTGA AGCACATTCT TGGATTGTTA TACAAGTTGA CATGAAGCTT	2280
50	GTTTTGGGTA ATCAATGCCA GGAAAAAGAT TATAAGACCT GGGAGGTAAC AGACCTGCGT	2340
	AACAGTACTC AACACTGTTT ACTTGGTAAA AAGCAAATAT ACAAGCGTCG TGACCCAACT	2400
	TCATATGTT ACAATGGATA TGATTATGAC CGTCCCATAT CTTCTTTTCC ATGTCTTTGC	2460
55	ACCAGGGAAG ATTATGACTG TGATTTTGGT TTCAAATTAT CTTGGAAAGG ATGGTCTAGT	2520
	ATTTCTTGTG CTCCTGACAC AGACAACATT TTTTCTGCTA ATCAGACCAT TCCTGCCTGG	2580
	TGCAAACCAG GAAAATTTTA CAATCATTCT ACTGGATACC GCAAAGTCCC TGGTGATGAA	2640
60	TGCAATGGTG GCATCGAAGA TCAATTAAAC CCCATACTTC GTGCATGTCC AATAAAAAAG	2700
	TCATCTGAAT ACTTGTTTTA CTCAACAAGA AGAAACATTT ACCGCTATGA TTTTGTTACA	2760
65	AAAGAGGTGA TTGAGTTTGA CTTGAATGAC ATGAAAAATG TGGTATCTCT GGAAGTTGAT	2820

DE 198 08 258 A 1

TACAACTCAA ATGTGTTGTT TTACGCTGAT ATCATGCTTG AAAAAATTGT CGTTATGAAT	2880	
ATGAATACAG GCAATATTTT TGTACTTTTG CAAATGAACA ATTCGGTTGT TCATATAGAA	2940	
GCTCTTTCAT ATGATTGGAT GAATGGCAAT CTGTACTATT GTGATGCAGG ATTGGCAGAA	3000	5
ATAGGAACAA TAAGTTTACA AAAAAATAT AGAAAAGTTC TTGTAAAAAA TGATACATTA	3060	
GATAAACCCA GGGCTTTGGT ACTGCATCCT CAAAAAGGCA TTATGTTTTG GACAGATTGG	3120	10
GGGCTTAACC CAAAAGTTGG TTCTGCAAAAC ATGGATGGTT CGAAACCCTA CTCTGTTATA	3180	
TCTAGTAATA TCAGATATCC AAATGGTCTT GCTATTGATT ATGTTGAAAA CAGGCTTTAT	3240	
TGGACTGATG CTGGTACTTA TAAAATTGAA TCATCTGATT TAAATGGACA AAATCGAAAG	3300	15
GTTGTGACAT CAAGCACAAAC GCATCCTTAT TCACTAACAA TATTAAAAAA TGACATTTAT	3360	
TGGGATGACT GGGTTACACA CTCCATATCT AAAGTTGATA AGAAGTCATC GAGCATTGAA	3420	20
ACTGTAATTC CATACATTTA CAACGGAATG GATGTGAAAG CATATTGGCC TGAAAAACAA	3480	
ACCACAGGTT ACAACCCATG CAGTTCATCC AGATGTAGTT TTTGGTGTTC GCCTATTGCT	3540	
GATTACCCAG GGTACCGATG TACTTGTCCT GACAATCTTG TTGATAATGG AAATGGCAAC	3600	25
TGCACATGCC CAGGATCTGA GGTCTATCAA GATGGGGAGT GCAAACCAAA GTTAGATTGC	3660	
ATGGATAATC AGTTTAAATG TACTAATGGC GATTGCATTC CGTTGACTTG GAAGTGTGAT	3720	30
ATGGATACTG ATTGCAATGA TTCATCAGAT GAAGACAAAA ATATATGCAA TAAAGTAAAG	3780	
TGCAACGCTA ACCAATTCAC ATGTGCAAAT AATCGTTGTT TACCAAGTTT GTCATGGCAT	3840	
TGTGATGGTG AAAATGATTG TGGGGATGGT AGTGATGAAA AACATTGTTT TAACTGTACA	3900	35
GAAAGCACCC ATTTCTTATG CCCGAATAAT CGATGTATTT CTAAATCTTG GCTTTGTGAT	3960	
GGAGATAATG ACTGTTCTGA TGGTTTTGAT GAAGCTCCTG CTATCTGTGG AGCAAAAACT	4020	
ACTCAAATGC CATACACCGA ACCCACACAG CCACAATTCT GCTCACAGAA TCAATTCAAA	4080	40
TGCAAAAATA ACAATTGTAT TGCTTCTTTT TTCAAATGTA ATGGATTAGA TGATTGTGGA	4140	
GATAACTCAG ATGAGAGCTC TTGTCAATCC ACATTCACCC CACCAGTAAC ATCACTTAAA	4200	45
TGTGGTTTTG GTGAGGCGTA TTGTGCAGAT CGTAAAGAGT GTTATCAAAA AATATCCAAA	4260	
TGTGATGGTA TGCTTGATTG TCGAGATGGC TCTGATGAAT ATAATTGTAA AACCATGCCA	4320	
ACCACACCAA TAGTTTCCTG TACTGGTTTT AGATGCAAAA CTGGTGAATG CATTTCCTA	4380	50
AAAAAAGTTT GTGACACGAG AAAGGATTGT CCTTTAGGGG AAGATGAGAG TATCTGCAAA	4440	
GGAATGTTAA ATGACGTTTG CTACCCTGCG CCCTTTGGTT TCAATTGCAC TATACCTGAT	4500	
GGCCGATGCT ACTCACACAG TAAAATGTGT GATAAAAACT TTGACTGTAC AGATCTTTCA	4560	55
GACGAAGATC CTAAAGTCTG CGAGGTCACT AAGAGGGTAT CAAATCTAGC CTTTACCGTT	4620	
AATCAAACCT CAGTTTGTGTT ATCGTGGGAA CATCCTCCTG TTAAATTAAA GGATGTTGAG	4680	60
GGATATGTGG TTTCTTACAT TGATGAAAAA AATAAAGTTA CCGAAATACC AATTGGTCTT	4740	
CAGAAGTCTT ACACAGTTAC AAACCTTAAA CCTTGCAGAC AGTATGTGTT CGCAGTTGCC	4800	
ATCGCTCATA ATAATGTTGA AAAGATTAAAG TGGTTATACA CTTCAACTGA TCCCTTGCGG	4860	65

DE 198 08 258 A 1

ACCGGGGGGG TTAGAAAACC TGAGGGAGCT TATAATATTG ATGTTTATCC ATCATTGTGTT 4920
TCTTGACAG AAGATGTAGG AAATTGCTTT CTTCAATATG AAATAATATA CAAAATGTTG 4980
5 AAATGTAATC AAATAGTTGA CGAAATAATG TTGGATGGAG ATACTAGAAT TAAAAATATG 5040
GATGCACTAT TACTCAGTTA TGGTGGAAAA CTTGAAACA CGTACAGTTG CGTTATTTTG 5100
10 ATCGCATATG AATCTTCTGA AGGAAATCCC TTTAATCGTA CATCCACGCC ATTTTCAGTAC 5160
ACACCTGTTG GAACTTTGGA AGCAGCTCCT GTTAAACAAC AAGAAAATCA CAGTTCTTTC 5220
AAATCAAAGG CCATTATATG GGGTATTCCA GTAGCATTGG TACTGATTGC TCTGTTTGT 5280
15 GGGTTATTTG TTATGATTTA CAAATACCGA CGTTTACAGC ACAGTTTTTTT GGC GTTCGCG 5340
GCACGCGGAA GTTACGCGCA TCAAGATGAT TTTGACGATG ATAATATGGT CGTGGGTTTT 5400
CACTCAGGTG AGGACGCCCC GATGATCAAT CGTTCTCAG ACGATGAGCC CCTTGTTGTC 5460
20 GCTTAAATTT TTGATGAAAA AATATTTCTT CTTCTCATA TTTGCACATG AATTTTGTTC 5520
GAAATGTTTT TAACTTTTTT GTAAAAATGG GGAAGCATT AGTATTTTTT AAAGCGTTCT 5580
25 TTGAAAGGAA AAAACTTTTT TTTAACTCG TATTAATTAT GCTAATTAAT CTTGTAAATA 5640
TTTCTGGTTC TTTTGCATTG TAATTGTATT CTCGATGTTT TGAAGTTAAT TTTCTTTGG 5700
AGTTTTCTAC GTCCGTCTAC GGTGTCTACG GCGTCTACAG CGTTGTGGAT ATTCACATCT 5760
30 AAAATGTCAG CATCGTTCT AGCAATTCGT TTATGAATTT ATGAAATTTT TATCTTGTGT 5820
AAAGTTTTAC TAATTTTAA 5839

35 (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 13 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

40 (C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

45 (iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: NEIN

50 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

Ser Ala Ala Ser Glu Leu Pro Gln Ser Thr Pro Phe Ser
1 5 10

55 (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 16 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

60 (C) STRANGFORM:

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

65 (iv) ANTISENSE: NEIN

DE 198 08 258 A 1

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

Ser	Ala	Ala	Ser	Glu	Leu	Pro	Gln	Ser	Thr	Pro	Phe	Ser	Phe	Asn	Asp	
1				5					10					15		5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN: 10
 (A) LÄNGE: 13 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid 15

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: NEIN 20

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

Tyr	Pro	Asn	Gly	Leu	Ala	Ile	Asp	Tyr	Val	Glu	Asn	Arg	
1				5					10				25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN: 30
 (A) LÄNGE: 8 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid 35

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: NEIN 40

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

Asn	Leu	Gln	Ser	Tyr	Ile	Thr	Phe	
1				5				45

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN: 50
 (A) LÄNGE: 13 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid 55

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iv) ANTISENSE: NEIN 60

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Gln	Tyr	Phe	Ala	Val	Ala	Ile	Ala	His	Asn	Asn	Val	Glu	
1				5					10				65

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 12 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
- (iv) ANTISENSE: NEIN
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:
- | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Val | Thr | Ser | Ser | Thr | Thr | His | Pro | Tyr | Ser | Leu |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | |

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 13 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
- (iv) ANTISENSE: NEIN
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:
- | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Val | Glu | Gly | Tyr | Val | Val | Ser | Tyr | Ile | Asp | Glu | Lys |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | |

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 10 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
- (iv) ANTISENSE: NEIN
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:
- | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | His | Pro | Arg | Asn | Ala | Tyr | Tyr | Val | Met |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 |

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 (A) LÄNGE: 12 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (C) STRANGFORM:
 (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
- (iv) ANTISENSE: NEIN
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:
- Thr Pro Leu Arg Ile Tyr Gly Leu Leu Thr Glu Pro
1 5 10
- (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:
- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
- (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
- (iv) ANTISENSE: NEIN
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:
- Asn Asp Ile Tyr Trp Asp Asp Trp Val
1 5
- (2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:
- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
- (A) LÄNGE: 12 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM:
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid
- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
- (iv) ANTISENSE: NEIN
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:
- Arg Val Ser Asn Leu Ala Phe Thr Val Asn Gln Thr
1 5 10

Patentansprüche

1. Kopfaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid, erhältlich durch Isolierung aus *Chlorohydra viridissima* durch Anreicherung und Reinigung mittels chromatographischer Methoden, insbesondere Affinitätschromatographie mit Kopfaktivator als Affinitätsligand sowie Charakterisierung des erhaltenen Proteins oder Polypeptids durch Eindung von Kopfaktivator.
2. Kopfaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid nach Anspruch 1, als komplexe Anordnung von mindestens einem kopfaktivator-bindenden Protein oder Polypeptid mit mindestens einem weiteren Protein oder Polypeptid.
3. Kopfaktivator-bindendes Protein nach Anspruch 1, mit der in Seq. ID No. 1 genannten Aminosäuresequenz.
4. Kopfaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid, welches mindestens innerhalb der kopfaktivator-bindenden Domäne in mindestens einer Teilsequenz zu mindestens 90%, insbesondere zu mindestens 95%, homolog zu der Teilsequenz der kopfaktivator-bindenden Domäne der in Anspruch 3 genannten Aminosäuresequenz ist.
5. Kopfaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid nach Anspruch 4, wobei die Teilsequenz aus mindestens 20 Aminosäuren besteht.
6. Verfahren zur Suche nach funktionalen Agonisten oder Antagonisten als Wirkstoff durch Bestimmung der Bin-

dingungseigenschaften der in Frage kommenden Wirkstoffe oder in einer Probe befindlichen möglichen Wirkstoffe mit einem Protein oder Polypeptid nach einem der Ansprüche 1 bis 5.

7. Verfahren nach Anspruch 6 zur Suche nach Wirkstoffen, die zur Therapie von mit neurodegenerativen Erscheinungen verbundenen Erkrankungen eingesetzt werden, durch Bestimmung der Bindungseigenschaften der in Frage kommenden Wirkstoffe oder in einer Probe befindlichen möglichen Wirkstoffe mit einem Rezeptor und/oder durch Messung einer rezeptorvermittelten Veränderung in der zellulären Signalübertragung, dadurch gekennzeichnet, daß als Protein oder Polypeptid nach einem der Ansprüche 1 bis 5 ein kopfaktivator-bindender Rezeptor oder Rezeptorkomplex eingesetzt wird und die agonistische oder antagonistische Wirkung im Vergleich zum Kopfaktivator oder zu Derivaten des Kopfaktivators getestet wird.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 und/oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß das kopfaktivator-bindende Protein oder Polypeptid in löslicher oder membranassoziierter Form vorliegt.

9. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß ein aus Coelenteraten, insbesondere *Hydra ssp.* oder *Anthopleura ssp.*, oder aus Säugern, insbesondere dem Hypothalamus des Menschen oder des Rindes, isolierter Kopfaktivator verwendet wird.

10. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das kopfaktivator-bindende Protein oder Polypeptid mindestens eine der im folgenden aufgeführten Domänen und/oder mindestens eine zu diesen Domänen homologe Domäne und/oder Kombinationen hiervon aufweist: VPS10, LDLR-B, EGF, LDLR-A, FIII, TM und IC.

11. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 6 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß sich die kopfaktivator-bindende Domäne des Proteins oder Polypeptids außerhalb oder innerhalb mindestens einer der Domänen vom Typ VPS10, LDLR-B, EGF, LDLR-A, FIII, TM und IC und/oder mindestens einer zu diesen Domänen homologen Domänen befindet.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß ein kopfaktivator-bindendes Protein mit einer Anordnung der zu folgenden Domänen homologen Domänen verwendet wird:

- VPS10-Domäne, gefolgt von
- sechs LDLR-E-Domänen,
- einer EGF-Domäne,
- sieben LDLR-A-Domänen,
- zwei Domänen vom FIII-Typ,
- einer TM-Domäne und
- einer IC-Domäne.

13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß ein kopfaktivator-bindendes Protein mit der in Anspruch 3 genannten Aminosäuresequenz verwendet wird.

14. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 6 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß ein kopfaktivator-bindendes Protein oder Polypeptid verwendet wird, welches mindestens innerhalb der kopfaktivator-bindenden Domäne in mindestens einer Teilsequenz zu mindestens 90%, insbesondere zu mindestens 95%, homolog zu der Teilsequenz der kopfaktivator-bindenden Domäne der in Anspruch 3 genannten Aminosäuresequenz ist.

15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Teilsequenz aus mindestens 20 Aminosäuren besteht.

16. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 6 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß das kopfaktivator-bindende Protein oder Polypeptid aus *Hydra ssp.* oder Säugergewebe isolierbar ist.

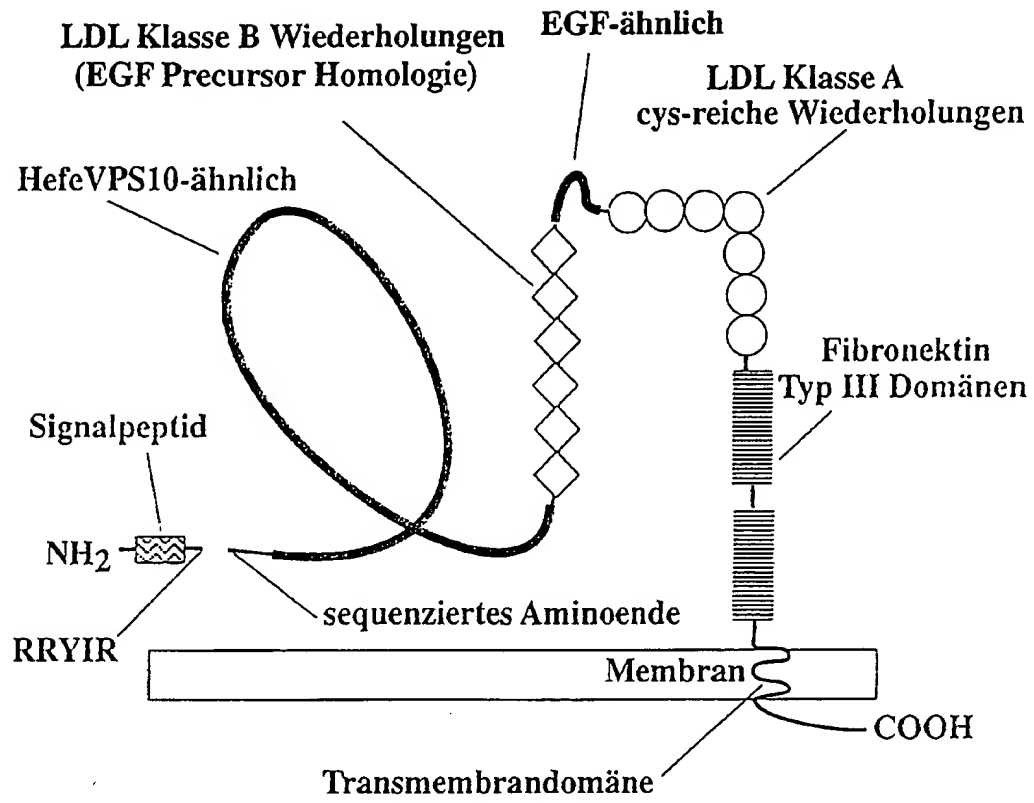
17. Wirkstoff erhältlich durch ein Verfahren nach einem der Ansprüche 5 bis 16.

18. cDNA mit der in Seq. ID No. 2 genannten Sequenz kodierend für ein kopfaktivator-bindendes Protein gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5.

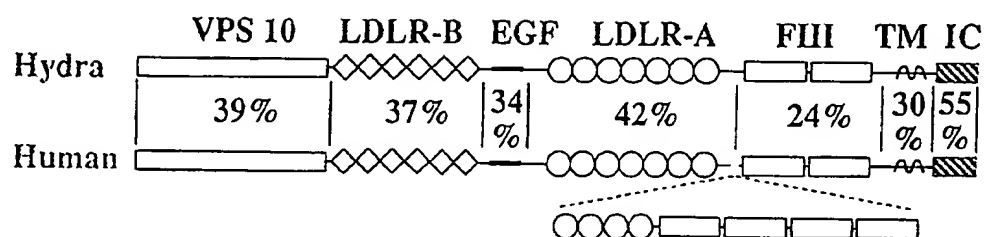
19. Fragmente der Kopfaktivator-bindenden Proteine oder Polypeptide mit den in Seq.ID No. 3-13 genannten Aminosäuresequenzen.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -



Figur 1



Figur 2

